

Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.  
12. Jg. 1974, S. 154–158

## Enzymdiagnostik bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie: Beseitigung von Plasmatrübungen durch selektive Polyanionenpräzipitation von Plasma-Lipoproteinen.

Von J. Lambrecht und D. Seidel

Klin.-Chem. Laboratorium der Med. Univ.-Klinik Heidelberg

(Eingegangen am 2. Februar 1974)

Es wird über eine einfache Methode berichtet, die es gestattet, Enzymaktivitätsbestimmungen an trüben Plasmen von Patienten mit Hyperlipoproteinämie zuverlässig durchzuführen.

An 30 klaren Plasmen unterschiedlicher Enzymaktivitäten wurden vor und nach Lipoproteinpräzipitation durch Zusetzen eines Heparin-MgCl<sub>2</sub>-Gemischs folgende Enzyme untersucht: Aspartat-Aminotransferase (EC 2.6.1.1), Alanin-Aminotransferase (EC 2.6.1.2),  $\gamma$ -Glutamyltranspeptidase (EC 2.3.2.1), alkalische Phosphatase (EC 3.1.3.1), Leucinaminopeptidase (EC 3.4.1.1), Lactatdehydrogenase (EC 1.1.1.27), Creatinkinase (EC 2.7.3.2), saure Phosphatase (EC 3.1.3.2) und  $\alpha$ -Amylase (EC 3.2.1.1). Nur bei der sauren Phosphatase und der  $\alpha$ -Amylase kam es zu einer erheblichen inkonstanten Inaktivierung durch die Präzipitation. Alle übrigen Enzymaktivitäten zeigten praktisch keine Veränderungen.

Um in einem Modellversuch den Einfluß hoher Lipoproteinkonzentrationen zu klären, wurden außerdem bei 15 der 30 Plasmen in weiteren Ansätzen gereinigte VLDL<sup>1)</sup> zugesetzt. Auch hierbei ergab die Bestimmung aller getesteten Enzymaktivitäten nach Lipoproteinpräzipitation zuverlässige Resultate.

### *A simple method for the determination of enzyme activities in turbid plasma of patients with hyperlipoproteinemia*

This study presents for the first time a simple technique which allows enzyme determinations after the removal of very low density lipoproteins (VLDL  $d < 1.006$  g/ml) from the turbid plasma by precipitation with polyanionic compounds (MgCl<sub>2</sub>-Na-Heparinate mixture).

Using 30 non-turbid plasma samples of different enzyme activities alanine aminotransferase (2.6.1.2), aspartate aminotransferase (2.6.1.1),  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase (2.3.2.1), lactate dehydrogenase (1.1.1.27), alkaline phosphatase (3.1.3.1), leucine aminopeptidase (3.4.1.1), creatine kinase (2.7.3.2), acid phosphatase (3.1.3.2), and  $\alpha$ -amylase (3.2.1.1) were determined before and after precipitation with polyanionic compounds. Only in the case of acid phosphatase and  $\alpha$ -amylase, did the precipitation technique show a significant influence on the enzyme activity, while all other enzymes showed almost identical activities before and after precipitation.

In order to study the effect of high lipoprotein concentrations in the plasma, purified VLDL<sup>1)</sup> were added in various amounts to 15 plasma samples of known enzyme activity. Under these conditions also, the determinations of all of the investigated enzyme activities gave reliable results.

Plasmatrübungen sind in der Regel durch erhöhte Konzentrationen von triglyceridreichen Lipoproteinen bedingt. Es handelt sich hierbei um Lipoproteine der Dichteklasse  $d < 1,006$  g/ml, die sogenannten „very low density“-Lipoproteine (VLDL). Bei verschiedenen Formen von primären und sekundären Hyperlipoproteinämien findet sich eine Erhöhung der VLDL im engeren Sinne, die nach ihrer elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit auch als prä- $\beta$ -Lipoproteine bezeichnet werden. Eine Chylomikronämie kann hinzukommen (Übersicht siehe bei Fredrickson et al (1)). In diesen Fällen können photometrische Untersuchungen, insbesondere Enzymbestimmungen, empfindlich gestört oder ganz unmöglich sein. Das gilt vor allem dann, wenn im kurzwelligen Bereich gemessen wird. Gerade Erkrankungen, die wichtige Domänen der Enzymdiagnostik darstellen, wie z. B. der Herzinfarkt oder Lebererkrankungen, sind häufig mit Hyperlipoproteinämien kombiniert. Es ist daher von besonderem Interesse, auch in solchen Fällen Enzymbestimmungen durchführen zu können.

Bereits 1955 hat Bernfeld (2) Verfahren angegeben, Plasma-Lipoproteine mit Hilfe von Polyanionen selektiv zu präzipitieren. Diese Methodik wurde in den folgenden Jahren von Burstein et al (3) weiter ausgebaut. Ziel unserer Untersuchungen war es, eine für VLDL spezifische Präzipitationsmethode zu entwickeln, die es gestattet, auch an trüben Plasmen nach vorheriger Klärung eine Reihe klinisch wichtiger Enzyme einfach und zuverlässig zu bestimmen.

### Material und Methodik

#### Lösungen

##### Heparin

Liquemin-Ampullen, 500 IE./ml, Hoffmann-La Roche, Grenzach oder Heparin, 50 g/l, der Fa. Serva, Heidelberg.

MgCl<sub>2</sub>-Lösung, 2 mol/l (Fa. Merck, Darmstadt)

#### Untersuchungsmaterial

Jedes Enzym wurde an 30 klaren Plasmen verschiedener Enzymaktivität eines unausgewählten Krankengutes von ambulanten und stationären Patienten der Med. Univ.-Klinik Heidelberg getestet (Blutentnahme in Ammonium-Heparinat-Röhrchen der Fa. Sarstedt, Nümbrecht).

<sup>1)</sup> VLDL = Very low density lipoproteins

**Enzymbestimmungen**

Es wurden die folgenden Enzymaktivitäten untersucht: Die  $\alpha$ -Amylase wurde mit dem Phadebas-Amylase-Test der Fa. Pharmacia, Uppsala/Schweden und die alkalische Phosphatase mit Merckotest (Fa. Merck, Darmstadt), alle übrigen Enzyme mit Biochemica-Test-Sets der Fa. Boehringer, Mannheim bestimmt. Außer bei der Leucinaminopeptidase erfolgten die Messungen mit „optimierten“ Testansätzen nach den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie.

Die Messungen der Aspartat- und Alanin-Aminotransferase, Lactatdehydrogenase und alkalischen Phosphatase wurden am Reaction-Rate-Analyser 8600 der Fa. LKB, Lochham bei 25° C vorgenommen. Die übrigen Enzyme wurden am Spektrallinienspektrometer der Fa. Eppendorf, Hamburg mit Kompensationsschreiber und Küvettenwechselausrüstung bestimmt. Die Bewertung der  $\alpha$ -Amylase erfolgte als Endwertmessung gegen einen Leerwert nach einer 15-minütigen Inkubation bei 37° C im Wasserbad.

**Glucose-Bestimmung**

Die Messungen der Plasma-Glucose wurden am Glucose-Analyser der Fa. Beckman Instruments, München mit Reagenzien der Fa. Boehringer, Mannheim durchgeführt.

**Präzipitationstechnik**

1. Dem Plasma wurden 10 Vol % einer Mischung von gleichen Teilen Heparinlösung und 2 mol/l  $MgCl_2$ -Lösung zugesetzt.
2. Nach kurzem Durchmischen und 5-minütigem Stehen bei Raumtemperatur wurde 10 min bei 3000 U/min zentrifugiert.
3. Die an der Oberfläche abgesetzten Lipoproteinpräzipitate wurden durch Filtration entfernt.
4. An dem Filtrat wurden die Enzymaktivitäten in üblicher Weise bestimmt. Die gefundene Aktivität wurde mit dem Verdünnungsfaktor 1,1 multipliziert.

**VLDL-Präparation**

Zur Gewinnung von VLDL wurden trübe Plasmen (Triglyceridkonzentrationsbereich von 6,85–15,72 g/l) von Blutspendern bei der Dichte  $d < 1,006$  g/ml in einer Ultrazentrifuge der Fa. Beckman Instruments, München (Modell Spinco L2 65 B, Rotor Ti 60) 24 h bei 200.000 g und 4° C zentrifugiert. Die im Überstand enthaltenen VLDL wurden durch eine Schneidetechnik gewonnen und ausgiebig (etwa 24 h bei 4° C) unter mehrfachem Wechsel der Dialyselösung gegen eine Pufferlösung der folgenden Zusammensetzung dialysiert: 1 mmol/l Tris, pH 7,6; 0,15 mmol/l NaCl; 1,7 mmol/l EDTA. An der so gewonnenen VLDL-Fraktion

wurde der Triglyceridgehalt mit der Methode nach Eggstein und Kreutz (4) (Reagenzien der Fa. Boehringer, Mannheim) bestimmt und die Fraktion durch Einengen (Amicon-Filter) auf einen Triglyceridgehalt von 25 g/l eingestellt. Diese VLDL-Suspension wurde dann auf Reinheit bezüglich der zu untersuchenden Enzyme getestet und, sofern keine Enzymaktivität nachweisbar war, als VLDL-Stammlösung im weiteren Untersuchungsgang verwendet.

**Behandlung der Plasmen**

Zunächst wurde an jeweils 30 Plasmen die Enzymaktivität vor und nach Heparin- $MgCl_2$ -Präzipitation bestimmt.

Bei 15 dieser Plasmen wurden in zwei weiteren Parallelansätzen die präparierten VLDL wie folgt zugesetzt:

VLDL-Ansatz 1: 0,9 ml Plasma + 0,1 ml VLDL-Stammlösung  $\cong$  2,50 g/l zugesetzte Triglyceride im Ansatz.

VLDL-Ansatz 2: 0,6 ml Plasma + 0,4 ml VLDL-Stammlösung  $\cong$  10,0 g/l zugesetzte Triglyceride im Ansatz.

Nach Durchmischen und 60 min Stehenlassen bei Raumtemperatur wurden diese Ansätze weiterbehandelt wie unter „Präzipitationstechnik“ und „Enzymbestimmungen“ beschrieben. Bei der Berechnung der Ausgangsaktivität wurden die Verdünnungsfaktoren 11/9 bzw. 11/6 entsprechend berücksichtigt.

**Ergebnisse und Diskussion**

Um den Einfluß der Polyanionenpräzipitation auf die verschiedenen Enzymaktivitäten zu untersuchen, wurden 30 klare Plasmen mit der angegebenen Präzipitationstechnik behandelt. Sofort nach Zusetzen des Heparin- $MgCl_2$ -Gemischs kam es, bedingt durch die Ausfällung von Lipoproteinen, zu einer homogenen Trübung im Ansatz. Nach unserer Erfahrung reicht 5-minütiges Stehen des Ansatzes nach Zugabe der Präzipitationslösung aus, um auch stark lipämisches Plasma vollständig zu klären. Das Präzipitat wurde wie in der Methodik angegeben eliminiert und die jeweilige Enzymaktivität am klaren Filtrat sowie parallel dazu im unbehandelten Plasma bestimmt. Die statistische Auswertung dieser Ergebnisse ist in Tabelle 1 zusammengefaßt. Bei 7 der 9 untersuchten

Tab. 1. Plasma-Enzymaktivitäten vor und nach Heparin- $MgCl_2$ -Präzipitation

$\bar{x}$  = Mittelwerte der Enzymaktivitäten in U/l vor Heparin- $MgCl_2$ -Präzipitation  
 $\bar{y}$  = Mittelwerte der Enzymaktivitäten in U/l nach Heparin- $MgCl_2$ -Präzipitation  
 N = Anzahl der untersuchten Plasmen  
 r = Korrelationskoeffizient  
 a; b = Konstanten der Regressionsgeraden  $y = a + bx$

	Aspartat- Amino- transferase	Alanin- Amino- transferase	$\gamma$ -Glutamyl- trans- peptidase	alkalische Phosphatase	Leucin Amino- peptidase	Lactat- dehydro- genase	Creatin- kinase	saure Phos- phatase	$\alpha$ -Amylase
N	30	30	30	30	30	30	30		
Bereich	[7–420]	[7–500]	[15–311]	[80–938]	[8–42]	[108–880]	[25–551]	inkonstante Restaktivität von 0–50 % (Trübung im Testansatz)	inkonstante Restaktivität von 0–60 %
$\bar{x}$	47,1	45,6	106,3	215,4	20,6	221,4	128,3		
$\bar{y}$	48,1	46,4	106,0	217,7	21,1	222,1	131,3		
r	+ 0,999	+ 0,999	+ 0,998	+ 0,999	+ 0,992	+ 0,997	+ 0,999		
a	– 0,023	+ 0,275	– 0,406	– 1,542	– 0,213	– 3,318	– 0,300		
b	+ 1,021	+ 1,013	+ 1,001	+ 1,018	+ 1,033	+ 1,018	+ 1,026		
<b>Wilcoxon-Test:</b>									
$c_{0,05}$	14,0	12,0	28,5	22,0	14,0	35,0	35,0		
c	18,0	14,8	5,5	14,0	0,0	10,0	51,0		

Tab. 2. Plasma-Enzymaktivitäten ohne Behandlung und nach Heparin-MgCl<sub>2</sub>-Präzipitation ohne und mit VLDL-Zugabe

x = Mittelwerte der Enzymaktivitäten in U/l vor Heparin-MgCl<sub>2</sub>-Präzipitation  
 y = Mittelwerte der Enzymaktivitäten in U/l nach Heparin-MgCl<sub>2</sub>-Präzipitation  
 N = Anzahl der untersuchten Plasmen  
 r = Korrelationskoeffizient  
 a; b = Konstanten der Regressionsgeraden  $y = a + bx$   
 FG = Freiheitsgrade

Enzym	ohne Behandlung		nach Heparin-MgCl <sub>2</sub> -Präzipitation				Friedman-Test FG = 3; $\chi^2_{0.05}$ = 7,815 $\chi^2$
			ohne VLDL	nach Zugabe von VLDL 1 ± 2,50 g/l Triglyceride	nach Zugabe von VLDL 2 ± 10,0 g/l Triglyceride		
Aspartat-Aminotransferase	$\bar{x}$	36,5	$\bar{y}$	37,1	38,7	39,6	18,86'
	N	15	r	+ 0,999	+ 0,999	+ 0,999	
	Be- reich	[8–166]	a	– 0,057	+ 0,257	+ 1,373	
			b	+ 1,018	+ 1,024	+ 1,019	
Alanin-Aminotransferase	$\bar{x}$	31,9	$\bar{y}$	32,6	32,9	33,8	17,90
	N	15	r	+ 0,999	+ 0,999	+ 0,999	
	Be- reich	[10–160]	a	+ 0,093	+ 0,138	+ 1,037	
			b	+ 1,018	1,027	1,026	
$\gamma$ -Glutamyltranspeptidase	$\bar{x}$	98,5	$\bar{y}$	98,0	99,4	100,5	6,60
	N	15	r	+ 0,997	+ 0,998	+ 0,998	
	Be- reich	[15–231]	a	– 0,170	– 0,641	+ 1,311	
			b	+ 0,997	+ 1,016	+ 1,007	
Alkalische Phosphatase	$\bar{x}$	279,9	$\bar{y}$	283,7	286,5	288,9	10,98
	N	15	r	+ 0,999	+ 0,999	+ 0,998	
	Be- reich	[90–938]	a	– 1,450	+ 6,041	+ 9,230	
			b	+ 1,019	+ 1,002	+ 0,999	
Leucin Aminopeptidase	$\bar{x}$	24,1	$\bar{y}$	24,9	25,5	25,5	13,58
	N	15	r	+ 0,991	+ 0,983	+ 0,981	
	Be- reich	[13–42]	a	+ 0,001	+ 1,155	+ 1,304	
			b	+ 1,036	+ 1,013	+ 0,986	
Lactatdehydrogenase	$\bar{x}$	180,3	$\bar{y}$	183,3	185,7	190,7	25,46
	N	15	r	+ 0,997	+ 0,998	+ 0,996	
	Be- reich	[108–367]	a	– 3,669	– 4,875	– 0,055	
			b	+ 1,037	+ 1,057	+ 1,058	
Creatinkinase	$\bar{x}$	112,1	$\bar{y}$	113,2	112,5	116,7	8,46
	N	15	r	+ 0,999	+ 0,998	+ 0,996	
	Be- reich	[31–254]	a	+ 2,094	+ 2,307	+ 2,627	
			b	+ 0,995	+ 0,983	+ 1,017	

Enzyme ergab sich eine hochgradige Übereinstimmung der Meßwerte vor und nach Präzipitation. Der Steigungsfaktor b der Regressionsgeraden liegt in allen diesen Fällen geringgradig über + 1, d. h., es ist ein geringfügiger Trend zum Anstieg der gemessenen Enzymaktivitäten nach Polyanionenpräzipitation zu verzeichnen. Dieser Trend war im *Wilcoxon*-Test an verbundenen Stichproben aber lediglich bei der Aspartat- und Alanin-Aminotransferase sowie Creatinkinase signifikant. Als Signifikanzniveau wurde bei diesem wie auch beim folgenden *Friedman*-Test  $\alpha = 0,05$  festgelegt, da bei der Art der Fragestellung (Aufrechterhaltung der Nullhypothese) ein

großer Fehler 1. Art zugelassen werden mußte. Die Korrelationskoeffizienten waren bei diesen 7 Enzymen ausnahmslos größer als + 0,99. Es liegt somit bei diesen Enzymen eine hervorragende Korrelation der Aktivitätswerte vor und nach Lipoproteinpräzipitation vor.

Bei der Bestimmung der sauren Phosphatase an den Filtraten nach Heparin-MgCl<sub>2</sub>-Präzipitation kam es nach Zusetzen der Plasma-Präparation zum Puffer-Substrat-Gemisch zur massiven Trübung im Testansatz, wahrscheinlich bedingt durch Ausfällung des *p*-Nitrophenylphosphates. Es konnte lediglich eine inkonstante Restaktivität von 0–50% der Ausgangsaktivität gefunden wer-

Tab. 3. Plasma-Glucose-Konzentrationen ohne Behandlung und nach Heparin-MgCl<sub>2</sub>-Präzipitation ohne und mit VLDL-Zugabe

$\bar{x}$  = Mittelwert der Glucose-Konzentrationen in mg/l vor Heparin-MgCl<sub>2</sub>-Präzipitation  
 $\bar{y}$  = Mittelwert der Glucose-Konzentrationen in mg/l nach Heparin-MgCl<sub>2</sub>-Präzipitation  
 N = Anzahl der untersuchten Plasmen  
 r = Korrelationskoeffizient  
 a; b = Konstanten der Regressionsgeraden  $y = a + bx$   
 FG = Freiheitsgrade

ohne Behandlung	nach Heparin-MgCl <sub>2</sub> -Präzipitation				Friedman-Test FG = 3; $\chi^2_{0,05}$ = 7,815 $\chi^2$
	ohne VLDL	nach Zugabe von VLDL 1 ≈ 2,50 g/l Triglyceride	nach Zugabe von VLDL 2 ≈ 10,0 g/l Triglyceride		
$\bar{x}$	995	$\bar{y}$ 1007	1024	1050	15,33
N	10	r	+ 0,998	+ 0,998	
Bereich	[720–2060]	a	+ 20,96	+ 17,06	
		b	+ 0,991	+ 1,012	
				+ 51,02	
				+ 1,004	

den. Diese Schwierigkeit trat bei der Bestimmung der alkalischen Phosphatase nicht auf. Bei der  $\alpha$ -Amylase zeigte sich ebenfalls eine inkonstante Inaktivierung mit Restaktivitäten zwischen 0 und 60%. Diese beiden Enzymtests schieden deshalb von der weiteren Untersuchung aus.

Um in einem Modellversuch den Einfluß hoher Lipoproteinkonzentrationen zu klären, wurden bei 15 der oben genannten Plasmen in zwei weiteren Parallelsätzen präparierte Lipoproteine (VLDL) in zwei verschiedenen Konzentrationen zugesetzt. (s. „Behandlung der Plasmen“ unter Methodik).

Im VLDL-Ansatz 1 kam es nach Hinzufügen der VLDL-Präparation zu einer deutlichen opaleszenten Trübung des Plasmas, während im VLDL-Ansatz 2 eine massiv milchige Trübung durch VLDL-Zugabe erhalten wurde.

Vor Durchführung der Präzipitation wurde das Plasma-VLDL-Gemisch 1 Stunde bei Raumtemperatur belassen, um etwaige kurzfristige Wechselwirkungen zwischen Plasma und Lipoproteinpräparation abklingen zu lassen. Auch in den VLDL-Ansätzen 2 (s. Methodik) mit VLDL-Konzentrationen entsprechend einer Triglyceridkonzentration von über 10,0 g/l war in allen Fällen mit der angegebenen Präzipitationstechnik eine einwandfreie Klärung des Plasmas zu erzielen. Orientierende Untersuchungen an Nativplasmen von Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ IV und V mit Triglyceridwerten zwischen 30 und 110 g/l zeigten, daß dies auch für extrem hohe VLDL-Konzentrationen zutrifft. Aus technischen Gründen war es allerdings nicht möglich, den Modellversuch mit so hohen VLDL-Konzentrationen durchzuführen.

Die Ergebnisse des VLDL-Zusatzversuchs sind in Tabelle 2 dargestellt. Die gute Übereinstimmung der Mittelwerte und die äußerst hohe Korrelation bei allen getesteten Enzymaktivitäten zeigen, daß es auch bei sehr hohen Lipoproteinkonzentrationen im Plasma nicht zu einer Beeinträchtigung dieser Enzymaktivitätsbestimmungen kommt.

Die genaue statistische Analyse zeigt auch hier eine Tendenz zum Aktivitätsanstieg nach der Lipoproteinpräzipitation, die offensichtlich mit steigenden VLDL-Konzentrationen zunimmt. Zur statistischen Überprüfung dieses Sachverhalts bietet sich der *Friedman*-Test an, da vier verbundene Stichproben vorliegen. Außer bei der  $\gamma$ -Glutamyltranspeptidase ergibt sich in allen Fällen eine deutliche statistische Signifikanz des Enzymaktivitätsanstiegs in Abhängigkeit von der artefiziell erhöhten VLDL-Konzentration. Jedoch auch nach Zusetzen einer sehr hohen VLDL-Menge entsprechend einer Triglyceridkonzentration im Plasma von über 10,0 g/l übersteigen die gefundenen Meßwerte die Ausgangswerte im Nativplasma im Mittel um nicht mehr als maximal 2–6%.

Um abzuklären, inwieweit dieser Trend durch einen direkten physikochemischen Einfluß der Präzipitationstechnik auf die Enzymaktivitäten als solche bedingt sein könnte, wurde an 10 weiteren Plasmen der VLDL-Zusatzversuch durchgeführt und anstelle der Enzymaktivitäten die Plasmaglukose bestimmt. In der hierzu verwendeten VLDL-Suspension selbst war keine Glukose nachweisbar. Wie aus der Tabelle 3 ersichtlich ist, tritt auch hier der gleiche Meßwertanstieg nach Präzipitation in Abhängigkeit von der VLDL-Konzentration im Ansatz auf. Auch dieser Trend war statistisch signifikant. Es bieten sich unseres Erachtens hierfür zwei Erklärungsmöglichkeiten an.

1. Es wäre denkbar, daß die Lipoproteinpräzipitation bedingt durch das relativ große Eigenvolumen der VLDL-Partikel eine Einengung der Plasmaprobe bewirkt.
2. Weiterhin muß die Möglichkeit in Betracht gezogen werden, daß trotz vorheriger Testung der VLDL-Suspension auf Reinheit bezüglich der getesteten Enzyme geringe Enzymmengen durch die VLDL-Zugabe in die Testansätze mit eingebracht worden sind. Dies müßte dann ebenso für die Plasma-Glukose angenommen werden.

Unabhängig von diesen Fragen ist jedoch ein so geringfügiger Meßwertanstieg von maximal 2–6% der Gesamtaktivität für klinische Belange ohne Bedeutung. Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die spezifische Lipoproteinpräzipitation eine einfache Möglichkeit bietet, auch in trüben Plasmen hyperlipämischer Patienten ein breites Spektrum klinisch wichtiger Enzyme zuverlässig zu diagnostizieren. Es gab bisher für dieses Problem keine befriedigenden Lösungen. Versuche einer Korrektur durch Analysenleerwerte oder Lipidextraktionsverfahren (*Richterich* (5)) kommen bei Enzymbestimmungen nicht in Betracht. Eine Beseitigung starker Serumtrübungen wurde durch Zentrifugation in Kälte (*F. W. Schmidt*, persönl. Mitt.) versucht. Aber auch dieses Verfahren ist unbefriedigend, da sicherlich der größte Anteil der VLDL-Fraktion durch diese Maßnahme

nicht entfernt werden kann. Auch die Aktivierung der Lipoproteinlipase durch die intravenöse Heparin-gabe vor der Blutentnahme zur Klärung des Plasmas (*Kattermann*, persönl. Mitt.) ist nach unserer Erfahrung nicht immer erfolgreich und außerdem umständlich. Das hier geschilderte Verfahren wurde in einem Modellversuch erprobt. Praktische Erfahrungen in der klinischen Routinediagnostik müssen noch gewonnen werden!

#### Danksagung

Herrn Dr. H. Scheurlen, Abteilung für Medizinische Dokumentation und Statistik der Universität, 69 Heidelberg, Voßstr. 3, danken wir für die Durchführung des *Wilcoxon*- und *Friedman*-Tests.

Die Arbeit wurde durch Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 90) unterstützt.

#### Literatur:

1. Fredrickson, D. S. & Levy, R. I. (1972) in „The Metabolic Basis of Inherited Disease“ (Stanbury, J. B., Wyngaarden, J. B., Fredrickson, D. S. Hrsg.) Third Edition, Mc. Graw-Hill Book Company, London, 545–614.
2. Bernfeld, P. (1955), *Fed. Proc.* 14, 182.
3. Burstein, M., Scholnik, H. R. & Morfin, R. (1970), *J. Lipid Res.* 11, 583–595.
4. Eggstein, M. & Kreutz, F. H. (1966), *Klin. Wochenschr.* 44, 262–267.
5. Richterich, R. (1968), „Klinische Chemie“, 2. Aufl., Verlag S. Karger Basel, New York, 65.

Dr. J. Lambrecht  
Zentrallabor des  
Städt. Krankenhauses Kemperhof  
5400 Koblenz 1  
Koblenzer Str.

Prof. Dr. D. Seidel  
Klin. Chem. Laboratorium  
der Med. Univ.-Klinik  
69 Heidelberg  
Bergheimer Str. 58